

18.11.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 1 1 月 1 1 日
Date of Application:

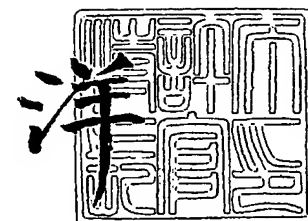
出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 3 8 1 5 5 7
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 3 8 1 5 5 7]

出 願 人
Applicant(s): 秀 道 広
 西川ゴム工業株式会社
 清水化学株式会社

2 0 0 5 年 1 月 6 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



BEST AVAILABLE COPY

出証番号 出証特 2 0 0 4 - 3 1 1 9 7 4 5

【書類名】 特許願
【整理番号】 P05141511
【あて先】 特許庁長官殿
【発明者】
 【住所又は居所】 広島市南区霞 2 - 3 - 2 3
 【氏名】 秀 道広
【発明者】
 【住所又は居所】 広島市佐伯区旭園 3 - 3 5 - 6 0 2
 【氏名】 亀好 良一
【発明者】
 【住所又は居所】 広島市安佐北区三入東 1 - 2 3 - 8
 【氏名】 鈴木 秀規
【発明者】
 【住所又は居所】 東広島市西条西本町 2 5 - 3 0 - 4 0 3
 【氏名】 大水 総一
【特許出願人】
 【住所又は居所】 広島県広島市南区霞 2 - 3 - 2 3
 【氏名又は名称】 秀 道広
【特許出願人】
 【識別番号】 000196107
 【氏名又は名称】 西川ゴム工業株式会社
【特許出願人】
 【識別番号】 591050822
 【氏名又は名称】 清水化学株式会社
【代理人】
 【識別番号】 110000084
 【氏名又は名称】 特許業務法人アルガ特許事務所
 【代表者】 中嶋 俊夫
【選任した代理人】
 【識別番号】 100068700
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 有賀 三幸
【選任した代理人】
 【識別番号】 100077562
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 高野 登志雄
【選任した代理人】
 【識別番号】 100096736
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 中嶋 俊夫
【選任した代理人】
 【識別番号】 100089048
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 浅野 康隆
【選任した代理人】
 【識別番号】 100101317
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 的場 ひろみ

【選任した代理人】
【識別番号】 100117156
【弁理士】
【氏名又は名称】 村田 正樹
【選任した代理人】
【識別番号】 100111028
【弁理士】
【氏名又は名称】 山本 博人
【手数料の表示】
【予納台帳番号】 164232
【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

水溶性食物繊維の加水分解物を有効成分とするアレルギー体質改善剤。

【請求項 2】

水溶性食物繊維の加水分解物を有効成分とする I g E 抗体産生抑制剤。

【請求項 3】

水溶性食物繊維がグルコマンナン又はガラクトマンナンである請求項 1 記載のアレルギー体質改善剤又は請求項 2 記載の I g E 抗体産生抑制剤。

【請求項 4】

水溶性食物繊維の加水分解物を含有するアレルギー体質改善食品。

【書類名】明細書

【発明の名称】アレルギー体質改善剤

【技術分野】

【0001】

本発明は、IgE抗体産生抑制作用を有し、アレルギー体質の改善に有効なアレルギー体質改善剤に関する。

【背景技術】

【0002】

今日、環境条件の悪化や生活様式の変化、社会生活の複雑化にともなうストレスの増加等により、特に先進工業国において、花粉症、アレルギー性鼻炎、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、薬物による蕁麻疹等のアレルギー性疾患を引き起こしやすいアレルギー体質の人が増加している。従って、アレルギー体質を改善する対策が強く求められている。

【0003】

アレルギーとは、本来、外敵（異物）を攻撃し、自己の防衛機能として働く免疫系が異常に過敏状態に陥り、自身の組織を攻撃することにより起こる疾患であり、4つの型に分類されている。I～III型アレルギーは、いずれも抗体による反応で、特にI型アレルギーは抗原と接触後2～3分で症状が現れ、十数分で最高となるため、即時型アレルギーと呼ばれ、IV型アレルギーはリンパ球が関与し、抗原が体内に侵入して24～48時間経ってからゆっくりと症状が現れることから、遅延型アレルギーと呼ばれる。I型アレルギーにはアトピー性皮膚炎、急性蕁麻疹、気管支喘息、花粉症、鼻炎、胃腸アレルギー等があり、発症頻度は最も高い。II型アレルギーには、溶血性貧血、血小板の減少、血液型不適合、薬剤アレルギー等が含まれ、III型アレルギーには血清病、糸状体腎炎、慢性肺臓炎、慢性関節リウマチ、ウイルス性肝炎等が含まれ、IV型アレルギーには接触皮膚炎、結核、臓器移植の拒絶反応、金属アレルギー等が含まれる。

【0004】

IgE抗体が関与するI型アレルギーの発症機序は以下のように考えられている。すなわち、卵、牛乳、大豆等の食物抗原やダニ、花粉等の吸入抗原等、各種外来抗原が体内に侵入し、これ抗原提示細胞が取り込み、CD4⁺T（ヘルパーT）細胞に対して抗原提示する。抗原提示細胞によって提示された抗原を認識したヘルパーT細胞は、B細胞と相互作用し、B細胞を抗体産生細胞へ分化増殖させる。

【0005】

ヘルパーT細胞は、その産生するサイトカインの種類によって、主に細胞性免疫を誘導するI型ヘルパーT細胞（Th1細胞）と液性免疫を誘導するII型ヘルパーT細胞（Th2細胞）の2種類に分類される（例えば、非特許文献1参照）。Th1細胞の産生するサイトカインは、インターロイキン2（IL-2）、インターフェロン γ （IFN- γ ）、TGF- β 等であり、Th2細胞は、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13等を産生する。抗原未感作なナイーブT細胞は、抗原提示細胞IL-12を作用させるとTh1細胞に、抗原提示細胞とIL-4を作用させるとTh2細胞に分化することが知られている。

【0006】

アレルギー反応に関わるTh2細胞の相互作用を受けたB細胞は、抗体産生細胞に成熟・増殖し、IgM抗体次いでIgG1抗体を産生し、最終的にIgE抗体を産生するようになる。一方、Th1細胞の相互作用を受けたB細胞は、IgM抗体、IgG2a抗体、IgG2b抗体、IgG3抗体を産生する抗体産生細胞へ成熟・増殖するが、Th1細胞の最も重要な働きは、その産生するIFN- γ の作用によってマクロファージを活性化し、細胞性免疫を誘導することにある。

【0007】

産生されたIgE抗体は肥満細胞の表面に結合し、特異抗原がこのIgE抗体に結合すると、肥満細胞が活性化し、ヒスタミン等の炎症性物質が放出され、アレルギー症状が誘発する。さらに肥満細胞から放出された走化性因子は、炎症作用を有する好酸球を誘引し

、炎症が増幅するほか、同様に肥満細胞が産生したインターロイキン4 (IL-4) や IL-13 はB細胞によるIgE抗体産生をさらに促進する。

【0008】

Th1細胞とTh2細胞は互いの働きを抑制しあう側面があり、例えばTh1細胞が産生するIFN- γ は、IgE抗体の産生を抑制することが知られている。健康な状態ではTh1/Th2細胞のバランスが保たれ、侵入した抗原に対してIgE抗体は産生されないが、アレルギー患者では、Th1/Th2細胞のバランスが乱れ、侵入した抗原に対して、Th1細胞よりもTh2細胞が優位に应答する状態にあり、IgE抗体が関与するアレルギーが誘発されやすい体質になっていると考えられている(例えば、非特許文献2参照)。

【0009】

従来、アレルギー疾患の予防或いは治療には、ステロイド剤、抗ヒスタミン剤、ケミカルメディエーター遊離抑制剤、免疫抑制剤等の薬剤が用いられてきた。また、加水分解されたグルコマンナンやガラクトマンナンが、腸内においてアレルゲンや微生物の取り込みを減少させる効果を有することも報告されている(例えば、特許文献1参照)。しかしながら、これらはいずれもアレルギー症状の発症を抑えるものであったり、アレルギー症状を緩和させるものであり、アレルギー体質を改善するものではない。

【0010】

これに対して、IgE抗体の産生を抑制するような薬剤は、アレルギー体質を改善するものとして期待され、トシル酸スプラタスト、ストリクチニン等の化合物が見出されている。また、グルコマンナンやこれの粉碎処理物に、IgE抗体産生抑制作用があることも報告されている(例えば、特許文献2参照)。

しかしながら、トシル酸スプラタスト等の化合物には副作用等の問題があり、上述のグルコマンナンでは、効果が不十分である、微細加工に特殊の装置・技術を必要とする、作用発現にまで時間がかかる、注射剤としては不適であり製剤処方に制限がある等の問題がある。

【0011】

【特許文献1】特表2003-513893号公報

【特許文献2】特開2003-55233号公報

【非特許文献1】Mosmann, T.R. et al.: J.Immunol., 136, 2348~2357, 1986

【非特許文献2】標準免疫学 編集: 谷口克、宮坂昌之 医学書院 2001

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

本発明は、アレルギー体質の改善に有効であり且つ安全で摂取しやすい、アレルギー体質改善剤を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明者らは、食物繊維の抗アレルギー作用に着目し、鋭意検討を重ねた結果、水溶性食物繊維を加水分解して得られる多糖類が、優れたIgE抗体産生抑制作用を有すると共に接種しやすく、アレルギー体質改善効果を発揮する医薬又は食品として有用であることを見出し、本発明を完成した。

【0014】

すなわち本発明は、水溶性食物繊維の加水分解物を有効成分とするアレルギー体質改善剤を提供するものである。

【0015】

また本発明は、水溶性食物繊維の加水分解物を有効成分とするIgE抗体産生抑制剤を提供するものである。

【0016】

また本発明は、水溶性食物繊維の加水分解物を含有するアレルギー体質改善食品を提

供するものである。

【発明の効果】

【0017】

本発明の水溶性食物繊維の加水分解物は、IgE抗体産生抑制作用を有することから、アトピー性皮膚炎を始めとするI型アレルギーを発症しやすい人の体質改善に有効である。また、本発明の水溶性食物繊維の加水分解物は、低分子であり易溶性であることから、経口投与製剤の他、注射剤等の非経口投与剤とすることも可能である。更に、食物繊維は日常的に食されていることから本発明品も安全性に問題は無く、高齢者から乳幼児に至るまで、安全で摂取しやすい食品として使用できる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0018】

食物繊維とは、ヒトの消化酵素で消化されない食品中の難消化性成分の総体と定義されており、水溶性食物繊維と非水溶性食物繊維に分類される。このうち、本発明においては、水溶性食物繊維が用いられる。水溶性食物繊維は、保水性が高く、通常水を加えると粘性の高い液状を呈するものであり、具体的には、グルコマンナン、ガラクトマンナン、水溶性ペクチン、アルギン酸、カラギーナン、フコイダン、アガー等が挙げられ、このうち効果の点からグルコマンナン、ガラクトマンナンが好ましい。

【0019】

水溶性食物繊維の加水分解物としては、上記水溶性食物繊維又はこれを含む原料、例えばコンニャク、ペクチンをマンナナーゼ、ペクチナーゼ等の酵素や酸、アルカリ等により加水分解して得られる分解物が挙げられるが、操作性、再現性、経済性等の点から、鉱酸、中でも塩酸を用いて加水分解されたものが好ましい。

【0020】

加水分解の条件は、特に限定されず、用いる原料に応じて適宜選択すればよい。例えば、酵素により加水分解する場合は、通常、水溶性食物繊維又はこれを含む原料を0.1～5重量%の溶液とし、用いる酵素の作用pH域、作用温度域で、通常30分～20時間程度、酵素を作用させればよい。

【0021】

また、酸・アルカリを用いた加水分解は、水溶性食物繊維又はこれを含む原料を0.1～5重量%の溶液とし、酸・アルカリを作用させればよい。例えば塩酸を用いる場合、塩酸濃度は0.05N～1.5N、好ましくは0.125N～1N、加水分解温度は35℃～90℃、好ましくは45℃～80℃、加水分解時間は30分～3時間、好ましくは1時間～2時間の範囲内で行えばよい。

【0022】

得られた加水分解物は、必要に応じて、遠心法、カラム法、限外濾過法等、公知の手法により、分離精製し、乾燥して用いることができる。

【0023】

尚、上記加水分解により得られる加水分解物としては、分子量が、数百ダルトン(D)～1000キログルトン(KD)の範囲にあるものが好ましく、数KD～数100KD程度のものがIgE産生抑制効果及び製剤処方点からより好ましい。

【0024】

斯くして得られた水溶性食物繊維の加水分解物は、後記実施例に示すようにIgE抗体産生抑制作用を有することから、IgE抗体産生抑制剤として、またアトピー性皮膚炎、気管支喘息、アレルギー性鼻炎等のI型アレルギーを発症しやすい人の当該アレルギー体質を改善するためのアレルギー体質改善剤として、医薬品、食品等の形態で使用できる。

【0025】

本発明のアレルギー体質改善剤、IgE抗体産生抑制剤を医薬品として用いる場合、経口投与剤、非経口投与剤のいずれの製剤にもすることができ、例えば錠剤、顆粒剤、カプセル剤、粉末剤等の固形製剤、シロップ剤、エリキシル剤等の液状製剤の他、注射剤、坐剤、吸入剤(スプレー)、点眼、外用剤とすることができる。

【0026】

斯かる製剤は、水溶性食物繊維の加水分解物を常法に従って薬学的に許容される担体と共に種々の剤型とすればよい。例えば、経口用固形製剤を調製する場合には、水溶性食物繊維の加水分解物に賦形剤、必要に応じて結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤等を加えた後、常法により錠剤、被覆錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等を製造することができる。また、注射剤とする場合は、担体として、例えば水、エチルアルコール、マクロゴール、プロピレングリコール等の各種希釈剤、pH調整剤及び緩衝剤、安定化剤、更に溶解補助剤、無痛化剤、局所麻酔剤等を適宜添加し、常法により皮下、筋肉内、静脈内用注射剤とすればよい。

【0027】

本発明のアレルギー体質改善剤、IgE抗体産生抑制剤を健康食品、保健機能食品等の食品とする場合には、ビスケット類、チョコレート類、キャンデー類、チューインガム類、スナック菓子類、油菓類、アイスクリーム類、ゼリー菓子等の菓子、パン類、めん類、豆腐等の大豆加工品、ヨーグルト、バター等の乳製品、ソース、ドレッシング、マヨネーズ、ふりかけ等の調味料、発酵乳、果汁飲料、スポーツドリンク、スープ等の飲料の形態とすることができる。

尚、斯かる食品には、さらに、一般にアレルギーに効果があるとされる、茶、紫蘇、甜茶、月見草、タンポポ、柿葉、よもぎ、柑橘類等を配合しても良い。

【0028】

上記アレルギー体質改善剤又はIgE抗体産生抑制剤の1日当たりの投与量は、患者の症状、体重、年齢、性別等によって異なり一概には決定できないが、水溶性食物繊維の加水分解物として通常成人1日当たり約30mg~30g、好ましくは約100mg~3gとすれば良く、これを1日1回又は2~4回程度に分けて投与するのが好ましい。

【0029】

以下、実施例を示して本発明をさらに詳細かつ具体的に説明する。

【実施例】

【0030】

実施例1 コンニャクグルコマンナンのIgE産生抑制効果

(1) コンニャクグルコマンナン加水分解物の調製

コンニャクグルコマンナン(和光純薬)20mgを蒸留水2.4mlに懸濁し、50℃の水浴中で2時間振盪してコンニャクゲルを調製した。これに塩酸を終濃度0.2Nとなるように加えて2時間振盪した。室温に戻し水酸化ナトリウムを添加して塩酸を中和し、さらに0.5Mリン酸緩衝液(pH 6.5)を0.5ml添加して溶液のpHを6.5に調整した。得られた加水分解物を遠心分離(10000rpm、10min)して不溶物を除き、Sephacryl S-200(1×45cm)(Amersham Bioscience社)カラムに懸け10mMリン酸緩衝液(pH6.5)で分画溶出した。得られた画分の全糖をフェノール硫酸法によって測定したところ、溶出液量18~22.5mlの位置にコンニャクグルコマンナンの加水分解物が溶出されることが分かった。この画分を集めリン酸緩衝液に対して透析した後限外濃縮器によって濃縮した。この加水分解物の糖としての濃度をフェノール硫酸法によって測定した。

【0031】

(2) コンニャクグルコマンナン加水分解物のin vitro 抗体産生系におけるIgE産生抑制効果

Balb/cマウス(8週齢、♂)の脾臓をISCOV培地中でほぐして細胞懸濁液を調製し、さらにLympholite-M(CedarLane Laboratories社)を用いた比重遠心分離法によりリンパ球分画を回収した。調製したリンパ球をIL-4(R&D社、最終濃度100ng/ml)、抗CD-40抗体(Serotec社、最終濃度200ng/ml)、及び2-mercaptoethanol(最終濃度50nM)を含むISCOV培地で 2×10^6 /mlの濃度になるように調整し、96-wellマイクロプレートの各wellに180μL/wellずつ分注した。これにPBS(-)10μL及びコンニャクグルコマンナン加水分解物10μLを添加し、炭酸ガス培養器中で7日間培養した。培養後、Wellの培養上清を回収し産生された抗体濃度を測定した。IgEの測定は、Bethyl社のMouse IgE Quantitative ELISAキット

を用い、製品付属の取扱説明書の方法に従って行った。

【0032】

図1に示すとおり、未加水分解コンニャクグルコマンナン、及びコンニャクグルコマンナンの構成糖の一つであるマンノースでは、IgE産生の抑制効果は見られなかった。これに対し、コンニャクグルコマンナン加水分解物を最終濃度で15、30、150 μ g/mlの濃度で添加した培養では、培地中に産生されたIgEはコントロールに比べ濃度依存的に低下していた。特に、150 μ g/mlでの抑制効果は顕著である。このことは、食物繊維が腸内細菌によって消化・低分子化されて始めてIgE産生抑制効果が現れることを示唆するものであり、従って、あらかじめ加水分解により低分子化された食物繊維は吸収性、即効性、有効性に優れるものと期待される。

【0033】

実施例2 ガラクトマンナンのIgE産生抑制効果

(1) ガラクトマンナン加水分解物の調製

グアーガム (Guar Gum) 又はイナゴマメガム (Locust Bean Gum) (シグマ) 20mgを蒸留水2.4mLにそれぞれ懸濁し、50℃の水浴中で3時間振盪してゲルを調製した。これに塩酸を終濃度0.2Nとなるように加えて2時間振盪した。室温に戻し水酸化ナトリウムを添加して塩酸を中和し、さらに0.5Mリン酸緩衝液 (pH 6.5) を0.5mL添加して溶液のpHを6.5に調整した。得られた加水分解物を遠心分離(10000rpm、10min)して不溶物を除きSephacryl S-200 (1 \times 45cm) カラムに懸け10mMリン酸緩衝液 (pH6.5) で分画溶出した。ガラクトマンナンの加水分解物は18~22.5mLの溶出位置に回収された。これをリン酸緩衝液に対して透析した後限外濃縮器によって濃縮した。この加水分解物の濃度をフェノール硫酸法によって測定した。

【0034】

(2) ガラクトマンナン加水分解物のin vitro 抗体産生系におけるIgE産生抑制効果

Balb/cマウス (8週齢、♂) の脾臓をISCOV培地中でほぐし細胞懸濁液を調製し、さらにLympholite-M (CedarLane Laboratories社) を用いた比重遠心分離法によりリンパ球分画を回収した。調製したリンパ球をIL-4 (R&D社、最終濃度100ng/ml)、抗CD-40抗体 (Serotec社、最終濃度200ng/ml)、及び2-mercaptoethanol (最終濃度50nM) を含むISCOV培地で 2×10^6 /mlの濃度になるように調整し、96-wellマイクロプレートの各wellに180 μ L/wellずつ分注した。これにPBS(-)10 μ L及びコンニャクグルコマンナン加水分解物10 μ Lを添加し炭酸ガス培養器中で7日間培養した。培養後、各々wellの培養上清を回収し産生されたIgE抗体濃度を測定した。

【0035】

それぞれのガラクトマンナン加水分解物を最終濃度で50及び150 μ g/mlの濃度で添加した培養では、培地中に産生されたIgEはコントロールに比べ有意に低下していた。(図2)。

【0036】

実施例3 コンニャクグルコマンナンのIgE産生抑制効果における分子量分布

(1) コンニャクグルコマンナン加水分解物の調製

コンニャクグルコマンナン (和光純薬) 20mgを蒸留水2mLに懸濁し75℃の水浴中で1時間振盪してコンニャクゲルを調製した。これに各濃度の塩酸を終濃度で1.0N、0.5N、0.25N、0.125Nとなるように加えて1時間振盪した。室温に戻し水酸化ナトリウムを添加して塩酸を中和し、さらに0.5Mリン酸緩衝液 (pH 6.5) を0.5mL添加して溶液のpHを6.5に調整した。得られた加水分解物を遠心分離(10000rpm、10min)して不溶物を除き、HiPrep 26/60 Sephacryl S-300HR (2.6 \times 60cm) (Amersham Bioscience社) カラムに懸けて10mMリン酸緩衝液 (pH6.5) で分画溶出した。得られた画分についてフェノール硫酸法により全糖を測定したところ、加水分解物は塩酸の濃度が高いほど低分子量の位置に溶出されることが分かった(図3)。このゲル濾過カラムでの分子量分画範囲は、球状タンパクとして見積もった場合は10KDから1500KD、デキストランとして見積もった場合は2KDから400KDである (Amersham Bioscience社)。加水分解されたコンニャクグルコマンナン分子の特性からデキス

トランの分画範囲と類似の挙動をとると考えられることから、コンニャクグルコマンナン加水分解物は塩酸濃度を調節することによって、およそ1KDから400KD程度までの広い分子量分布の範囲で調製されたことになる(図3)。それぞれの全糖のピークを中心に画分を集め、1KDから数100KDの分子量範囲をカバーする一連の加水分解物を調製することができた。集めた画分をリン酸緩衝液に対して透析した後、それぞれ予想される分子量に対応する限外濃縮器を用いて濃縮した。これらの加水分解物の糖としての濃度をフェノール硫酸法によって測定した。

【0037】

(2) コンニャクグルコマンナン加水分解物のin vitro 抗体産生系におけるIgE産生抑制効果

実施例1(2)及び実施例2(2)と同様の方法によりin vitro 抗体産生系におけるIgE産生抑制効果を調べた。試料としては、(1)で調製した分子量の異なるコンニャクグルコマンナン加水分解物を用いた。7日間培養後、各wellの培養上清を回収し産生されたIgE濃度を測定した。

【0038】

分子量の異なるコンニャクグルコマンナン加水分解物のIgE産生抑制効果は、塩酸濃度0.25Nで調製される分子量程度(球状タンパク換算では約60KD相当)までは小さくなるにつれてIgE産生抑制が強くなったが、それ以上の塩酸濃度では抑制効果は若干弱くなった(図4)。

【0039】

実施例4 ケラチノサイト抽出物によるIgE産生系に対するコンニャクグルコマンナン加水分解物の効果

アトピー性皮膚炎に伴い肌のかゆみがおこり、それを掻くことにより症状が悪化し、またかゆみが増大するという悪循環が見られる。この現象から、皮膚を掻くことによって、破壊された角化細胞(ケラチノサイト)が症状の悪化の原因であることが考えられる。ケラチノサイト(PAM-212細胞)の抽出物をBalb/cマウスに投与することによって、血中IgE産生が刺激されることが明らかにされている。また、Balb/cマウスの脾臓細胞を用いたin vitro IgE産生系にPAM-212細胞抽出物を添加することによって顕著にIgE産生が亢進することが明らかにされている(Yamamoto T, Kaneko S et al, (2002) Increase in serum IgE levels following injection of syngeneic keratinocyte extracts in BALB/c mice. Arch Dermatol Res 294: 117-23, 森本謙一、他、マウス角化細胞株由来IgE産生増強因子のIgEクラススイッチに及ぼす影響。アレルギー51(9・10), 992(抄), 2002)。そこで、ケラチノサイト抽出物によるin vitro IgE産生系を用いて、IgE産生亢進に対するコンニャクグルコマンナン加水分解物のIgE産生抑制効果を調べた。

【0040】

(1) コンニャクグルコマンナン加水分解物のin vitro 抗体産生系におけるIgE産生抑制効果

【0041】

Balb/cマウス(8週齢、♂)の脾臓をISCOV培地中でほぐして細胞懸濁液を調製し、さらにLympholite-M(CedarLane Laboratories社)を用いた比重遠心分離法によりリンパ球分画を回収した。調製したリンパ球をIL-4(R&D社、最終濃度100ng/ml)、抗CD-40抗体(Serotec社、最終濃度200ng/ml)、及び2-mercaptoethanol(最終濃度50nM)を含むISCOV培地中で 2×10^6 /mlの濃度になるように調整し、96-wellマイクロプレートの各wellに180 μ L/wellずつ分注した。これにケラチノサイト抽出物10 μ L及びコンニャクグルコマンナン加水分解物10 μ Lを添加し、炭酸ガス培養器中で7日間培養した。コンニャクグルコマンナン加水分解物は実施例1(1)と同様にして調製した。培養後、各wellの培養上清を回収し産生されたIgE抗体濃度を測定した。

【0042】

ケラチノサイト抽出物の添加によりin vitro IgE産生は増加した。これにコンニャクグルコマンナン加水分解物を最終濃度で15、30、150 μ g/mlの濃度で添加した培養では、実施例1(2)と同様、明らかにIgE産生の増加を抑制したのに対し、未加水分解物では抑

制効果はまったく認められなかった(図4)。

【図面の簡単な説明】

【0042】

【図1】 コンニャクグルコマンナン加水分解物のIgE産生抑制効果を示したグラフである。

【図2】 ガラクトマンナン加水分解物のIgE産生抑制効果を示したグラフである。

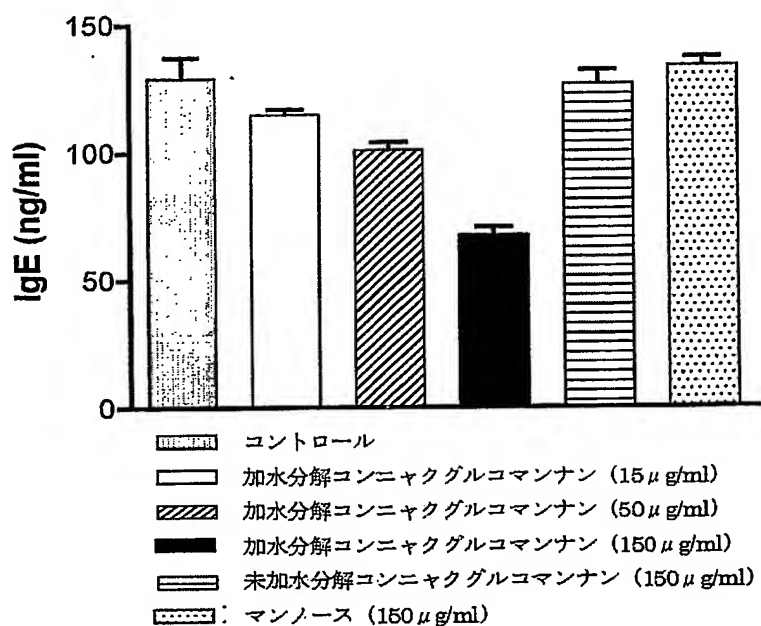
【図3】 異なる濃度の塩酸により加水分解されたコンニャクグルコマンナンのゲルろ過クロマトグラフである。

【図4】 異なる濃度の塩酸により加水分解されたコンニャクグルコマンナンのIgE産生抑制効果を示したグラフである。

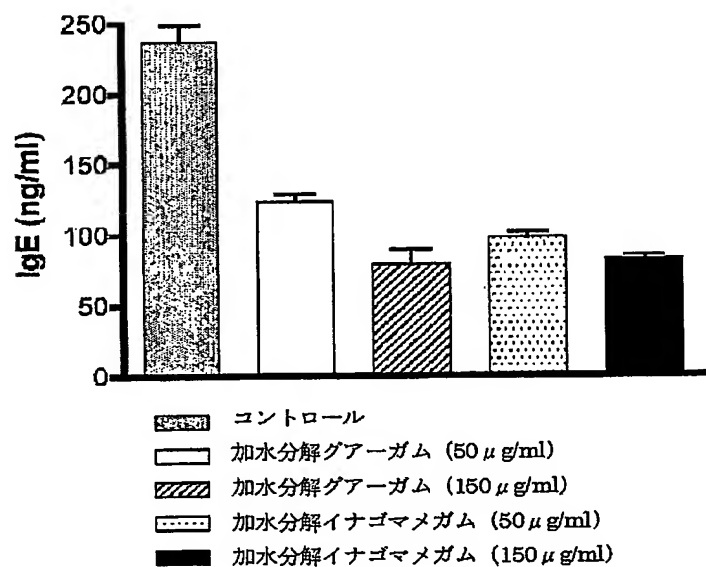
【図5】 マウス表皮細胞抽出物により誘起されるIgE産生に対するコンニャクグルコマンナン加水分解物の抑制効果を示したグラフである。

【書類名】 図面

【図 1】

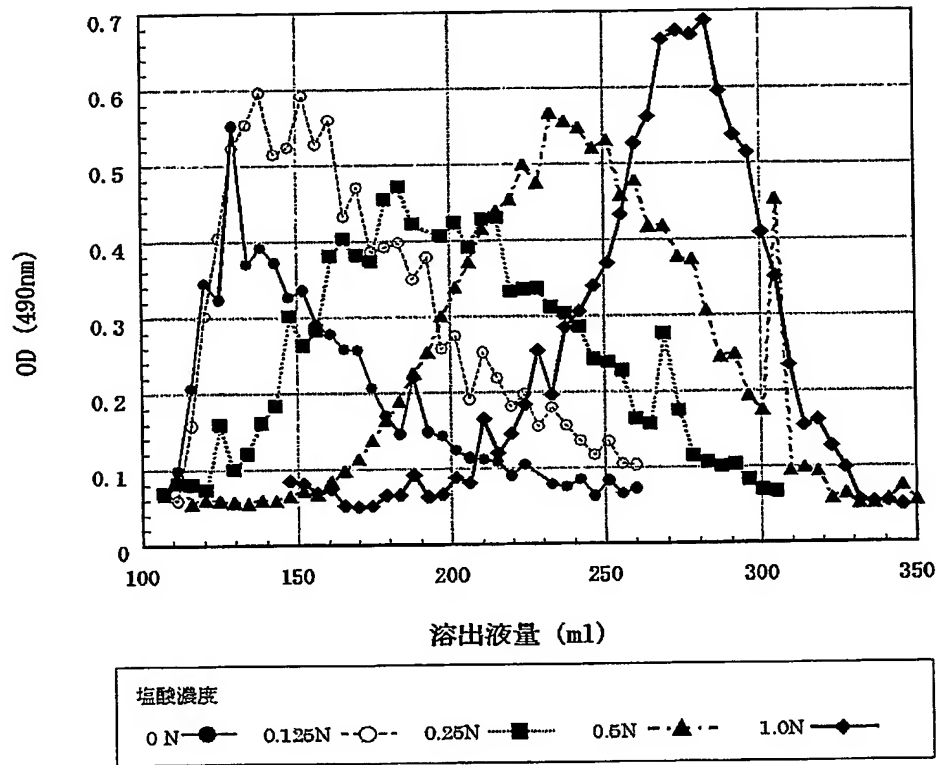


【図 2】

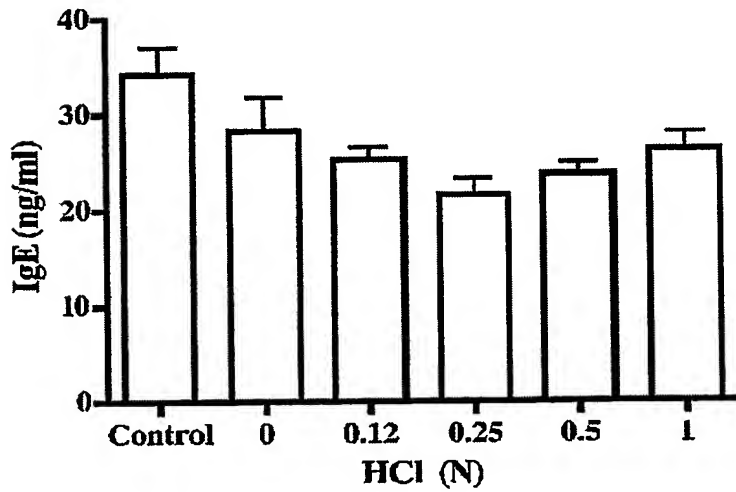


【図 3】

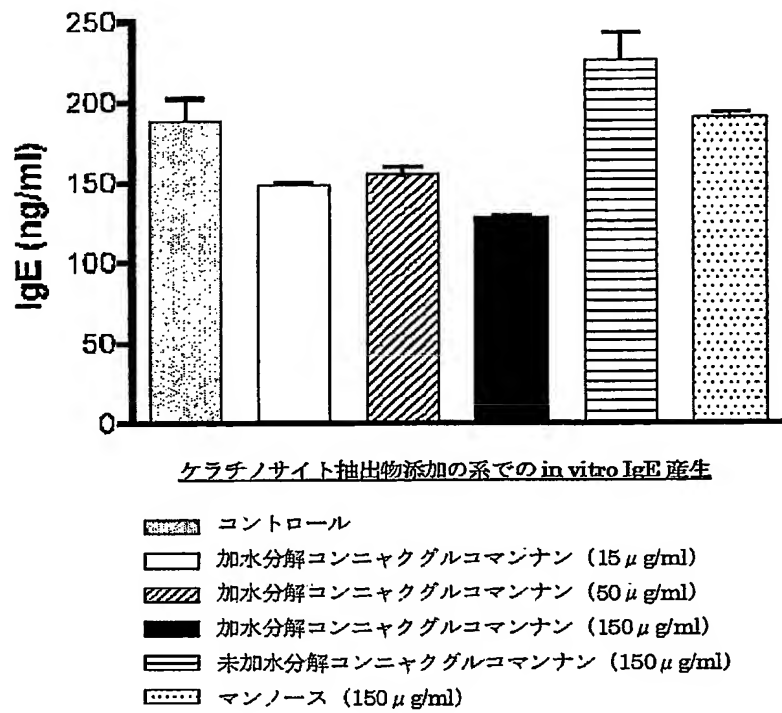
HiPrep Sephacryl S-300HR カラムクロマトグラフ



【図 4】



【図 5】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 アレルギー体質の改善に有効であり且つ安全で摂取しやすい、アレルギー体質改善剤を提供する。

【解決手段】 水溶性食物繊維の加水分解物を有効成分とするアレルギー体質改善剤、I g E抗体産生抑制剤。

【選択図】 なし

2

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 3 - 3 8 1 5 5 7
受付番号	5 0 3 0 1 8 6 4 5 1 1
書類名	特許願
担当官	第四担当上席 0 0 9 3
作成日	平成 1 5 年 1 1 月 1 2 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】 平成15年11月11日

特願 2 0 0 3 - 3 8 1 5 5 7

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 1 9 6 1 0 7]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 1 0 日

[変更理由]

新規登録

住 所

広島県広島市西区三篠町 2 丁目 2 番 8 号

氏 名

西川ゴム工業株式会社

特願 2 0 0 3 - 3 8 1 5 5 7

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[5 9 1 0 5 0 8 2 2]

1. 変更年月日
[変更理由]
住 所
氏 名

1 9 9 1 年 2 月 2 1 日
新規登録
広島県三原市木原町 3 6 2 2 番地
清水化学株式会社

特願 2003-381557

出願人履歴情報

識別番号

[502113002]

1. 変更年月日

2002年 3月29日

[変更理由]

新規登録

住所

広島県広島市南区霞2-3-23

氏名

秀道広

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/016676

International filing date: 10 November 2004 (10.11.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2003-381557
Filing date: 11 November 2003 (11.11.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 20 January 2005 (20.01.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record.**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.